

Histaminspiegel und Einfluß von Histamin
und Antihistaminika auf Kontraktilität sowie cAMP-
und cGMP-Gehalt der isolierten
Follikelhaut des Rindes

von

Cornelia Gotthardt-Moosbauer

aus

Gunzenhausen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546219_0088

Aus der Frauenklinik mit Poliklinik

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. K. G. Ober

Histaminspiegel und Einfluß von Histamin und Antihistaminika auf Kontraktilität sowie cAMP- und cGMP-Gehalt der isolierten Follikelhaut des Rindes

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Cornelia Gotthardt-Moosbauer

aus

Gunzenhausen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. H. Becker

Korreferent: Prof. Dr. K.-G. Ober

Tag der mündlichen Prüfung: 06.10.1980

Einleitung

Ebenso wie am Uterus und am Eileiter lassen sich auch am Gesamtovar (1) bzw. am isolierten Follikelstreifen (2) spontane Kontraktionen nachweisen. In mehreren Arbeiten (3-7, 8) konnte gezeigt werden, daß der perifollikuläre Cortex (8) und auch die Theca externa (9) der Ovarien von Ratte, Schaf, Rhesus-Affe, Katze, Meerschweinchen, Kaninchen und Mensch glatte Muskulatur besitzen. Eine Beteiligung dieser glattmuskulären Elemente am Mechanismus der Ovulation scheint denkbar, insbesondere da zum Zeitpunkt der Ovulation die Kontraktilität des Ovars ihr Maximum erreicht (1, 10).

Die physiologische Steuerung der Follikelmotilität ist noch nicht aufgeklärt. Diskutiert werden neben hypophysär-hormonellen Einflüssen (11) auch neuro-adrenerge und neuro-cholinerge Mechanismen sowie eine direkte Einwirkung von Prostaglandinen (2). Weiterhin ist bekannt, daß die glatte Muskulatur der Sexualorgane histaminerge H_1 bzw. H_2 Rezeptoren trägt, deren Erregung die Kontraktilität dieser Organe steigert bzw. vermindert (12, 13).

Es konnte gezeigt werden, daß Histamin die Motilität des Uterus herabsetzt und daß cyclische Nukleotide (cAMP, cGMP) als intrazelluläre "second messenger" am Histamin-

effekt beteiligt sind (13). In vorliegender Arbeit sollte untersucht werden, wie isolierte Follikelhautstreifen der Kuh auf histaminerge Reize reagieren und inwieweit Parallelitäten bestehen zwischen Uterus und Follikelhaut bezüglich histaminerner Wirkungen auf die Kontraktilität und den Gehalt des Gewebes an den cyclischen Nukleotiden cAMP und cGMP.

Methodik

Ovarien von frisch geschlachteten Kühen wurden nach der Entnahme sofort in mit Carbogen (95 % O₂ und 5 % CO₂) begaste Tyrode Lösung gebracht (Zusammensetzung der Tyrode Lösung: NaCl 0,8 %, KCl 0,02 %, CaCl₂ 0,02 %, MgCl₂ 0,01 %, NaHCO₃ 0,1 %, NaH₂PO₄ 0,005 %, Dextrose 0,1 %, pH 7,4). Die Haut von reifen Follikeln wurde in 0,5 x 1,5 cm lange Streifen geschnitten und die Streifen 30 min, unter einer Vorlast von 500 mg, in einem 10 ml Gefäß mit Carbogen durchperlter Tyrode von 37° C inkubiert. Die isotonische Registrierung der Motorik erfolgte mittels einer Meßeinrichtung, bestehend aus HSE Hebelaufnehmer und HF-Modem (Fa. Hugo Sachs Elektronik, Hugstetten) und einem Mehrkanalschreiber (Rika-Denki Elektronik GmbH, Freiburg).

Die Testsubstanzen wurden direkt dem Organbad zugegeben. Als Kontrollen dienten unbehandelte Follikelhautstreifen aus dem gleichen Follikel.

Im Gewebe wurden analog einer früheren Arbeit (14) cAMP mit Hilfe einer Proteinbildungsmethode (15), modifiziert nach BROWN et al. (16), und cGMP mittels eines spezifischen Radioimmunoassays (17) bestimmt. Weiterhin wurde mittels eines Enzym-Isotopen Assays (18) der Histaminspiegel der Follikelhaut gemessen. Bei den Experimenten wurden folgende Substanzen verwendet:

Histamindihydrochlorid, Diphenhydraminhydrochlorid, Acetylcholinchlorid, Noradrenalinhydrochlorid, Serotoninkreatininsulfat, Dopaminhydrochlorid, Cimetidinhydrochlorid, 4-Methylhistamindihydrochlorid* und 2-(2-Pyridyl)äthylamindihydrochlorid*.

Der statistischen Auswertung wurde der t-Test nach STUDENT zugrundegelegt. Als signifikant wurden Unterschiede mit $p \leq 0,05$ angesehen.

* Diese Substanzen wurden uns von Smith and French Laboratories Ltd. überlassen.

Ergebnisse

In den vorliegenden Experimenten konnten durch Noradrenalin (2,44 $\mu\text{g/ml}$) und Histamin (0,1 - 10 $\mu\text{g/ml}$) an isolierten Follikelstreifen aller Reifungsgrade isotonsche Kontraktionen ausgelöst werden. Die Kontraktionshöhe nahm mit zunehmender Follikelgröße zu. Andererseits wurde die Kontraktionsamplitude bei mehrmaliger Zugabe der Reizstoffe kleiner, d. h. die Organe wiesen eine ausgeprägte Tachyphylaxie auf. Aus diesem Grunde mußte die Untersuchung der Dosis-Wirkungsabhängigkeit so durchgeführt werden, daß jede Dosis an einem anderen Organstreifen ausgetestet wurde.

Abb. 1 zeigt die Wirkung unterschiedlicher Histamindosen auf die Kontraktilität des isolierten Follikelstreifens der Kuh. Dabei ist ein Kontrollreiz von 2,44 $\mu\text{g/ml}$ Noradrenalin gleich 100 % Kontraktionsamplitude gesetzt.

Wie Histamin, zeigt auch der H_1 Agonist 2-(2-Pyridyl)-äthylamin (10 $\mu\text{g/ml}$, nicht jedoch der H_2 Agonist 4-Methylhistamin (10 $\mu\text{g/ml}$) eine kontrahierende Wirkung.

Andere Testlösungen wie K^+ (40 mMol), Acetylcholin (1 $\mu\text{g/ml}$), Dopamin (40 $\mu\text{g/ml}$) und Serotonin (2 $\mu\text{g/ml}$) waren bis zu den angegebenen Konzentrationen ohne Einfluß

auf den Tonus der Follikelhaut. Die weiteren Versuche wurden mit der mittleren Histamindosis von $1 \mu\text{g/ml}$ durchgeführt.

Abb. 2 zeigt in Originalregistrierung, daß die durch $1 \mu\text{g/ml}$ Histamin ausgelöste Kontraktion durch $1 \mu\text{g/ml}$ Cimetidin nicht verändert, durch Diphenhydramin ($2 \mu\text{g/ml}$) hingegen vollständig aufgehoben wurde. Zwei Minuten nach Gabe von Histamin, also zum Zeitpunkt der größten Tonussteigerung, wurden die Follikelstreifen mit der Gefrierzange fixiert und im Gewebe die cyclischen Nukleotide cAMP und cGMP bestimmt. Wie aus Tab. 1 hervorgeht, nahm nach $1 \mu\text{g/ml}$ Histamin der Gewebsspiegel an cGMP, nicht aber der an cAMP, signifikant zu. Diese Zunahme konnte durch Vorbehandlung mit Diphenhydramin ($2 \mu\text{g/ml}$) verhindert werden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden in der Wand unterschiedlich großer Follikel die endogenen Histaminkonzentrationen bestimmt. Es ergab sich ein mittlerer Histamingehalt von $11,39 \pm 0,47 \mu\text{g/g}$ im Gewebe, unabhängig vom Reifegrad des Follikels.

Diskussion

Aus unseren Beobachtungen geht hervor, daß die Follikelwand des Rindes kontraktile Eigenschaften besitzt. Ebenso wie Noradrenalin, das über α -Rezeptoren den Tonus der Follikelhaut erhöht (2), führt auch Histamin zu einem signifikanten, dosisabhängigen Anstieg des Tonus. Wieder normalisieren ließ sich der Tonus durch Gabe eines Antihistaminikums - nämlich des H_1 Antagonisten Diphenhydramin.

Der H_2 Antagonist Cimetidin war ohne Einfluß. Die Schlußfolgerung, daß der Angriff des Histamin spezifisch an H_1 Rezeptoren der Follikelhaut erfolgt, wird auch dadurch unterstrichen, daß nur der H_1 Agonist 2-(2-Pyridyl)-äthylamin und nicht der H_2 Agonist 4-Methylhistamin in unseren Versuchen kontrahierende Wirkung zeigt.

Der Anstieg im Tonus nach Histamin geht einher mit einer signifikanten Zunahme im Gehalt der Follikelhaut an cGMP ohne signifikante Änderung im Gehalt an cAMP. Da bekanntlich Histamin wie auch andere Neurotransmitter und Hormone (19) den Gewebsspiegel an cGMP zu steigern vermag, ist ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Verabreichung von Histamin und dem erhöhten cGMP Gehalt in der Follikelhaut wahrscheinlich. Dafür spricht auch die Tatsache, daß sich der Tonusanstieg (Histamineffekt) wie

der Anstieg im cGMP durch Gabe des H_1 Antagonisten Diphenhydramin verhindern bzw. aufheben läßt. Da andererseits mehrfach nachgewiesen werden konnte, daß in glattemuskulären Organen das cGMP ein intracellulärer Vermittler ("second messenger") von kontraktionssteigernden hormonen (20), adrenergen (21) und cholinergen (22) Reizen ist, ist zu vermuten, daß auch die kontraktionssteigernde Wirkung des Histamin am Follikel ein indirekter, durch cGMP vermittelter Effekt ist.

In einer früheren Arbeit (13) konnte gezeigt werden, daß Histamin die glatte Muskulatur des Uterus erschlafft. Diese Wirkung ist durch den H_2 -Antagonisten Metiamid aufhebbar und somit als H_2 -histaminergischer Effekt zu deuten. Vergleicht man nun die Wirkung des Histamin an Uterus und Follikelhaut, so ergibt sich, daß durch den Angriff an zwei unterschiedlichen Rezeptoren ein und derselbe Wirkstoff in einem Organ die Kontraktilität zu steigern, in einem anderen zu hemmen vermag. Dies könnte auch physiologisch von Bedeutung sein: Man könnte vermuten, daß Histamin zum Platzen der Follikelmembran beiträgt und gleichzeitig durch Ruhigstellung des Uterus die Einnistung des Eies begünstigt.

Einen Hinweis auf eine solche Rolle des Histamin liefert auch der Befund, daß dieses Gewebshormon in relativ hoher Konzentration in der Follikelhaut vorhanden ist.

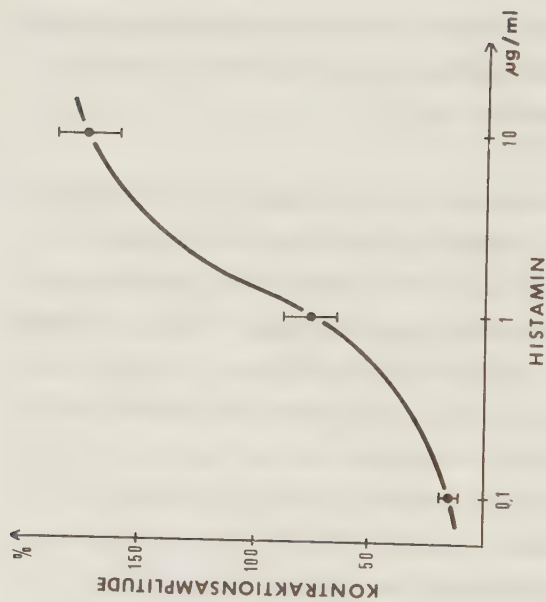


Abb. 1 : Konz. Wirkungsbeziehung zwischen Histamin und dem Muskeltonus des isolierten Follikel-hautstreifens der Kuh. Histamin wurde in Dosen von 0,1, 1, und 10 $\mu\text{g/ml}$ Badlösung angewendet. Der Muskeltonus ist ausgedrückt in % Kontraktionsamplitude, bezogen auf 2,44 $\mu\text{g/ml}$ Noradrenalin = 100 %. Die Abbildung zeigt Mittelwerte $\pm$ SEM. n = 6.

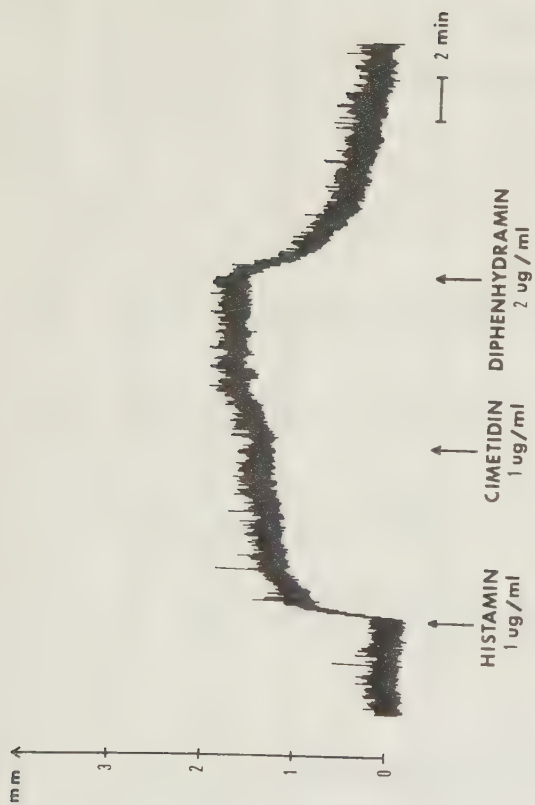


Abb. 2 : Wirkung von Histamin, Cimetidin und Diphenhydramin auf die Motilität des isolierten Follikelhautstreifens der Kuh (isotonische Registrierung).

	cAMP			cGMP		
	pMol/mg FG	%	p	pMol/mg FG	%	p
Kontrolle	0,750 $\pm$ 0,090	100	-	0,036 $\pm$ 0,008	100	-
Histamin $\cdot$ 1 μ g/ml	0,903 $\pm$ 0,159	120,4	$\gg$ 0,05	0,071 $\pm$ 0,014	197,2	$\ll$ 0,05
Diphenhydramin 2 μ g/ml + Histamin 1 μ g/ml	0,621 $\pm$ 0,119	82,8	$\gg$ 0,05	0,029 $\pm$ 0,004	80,6	$\gg$ 0,05

Tabelle 1: Gehalt der Follikelhautstreifen der Kuh an cAMP und cGMP ohne Vorbehandlung = Kontrolle, 2 min nach Gabe von Histamin, und 2 min nach Gabe von Histamin unter Vorgabe von Diphenhydramin (5 min). Angegeben sind Mittelwerte $\pm$ SEM. n $\geq$ 6.

Literatur

- 1 P. Virutamasen, K.M. Wright and E.E. Wallach
Obstet. Gynecol. 39, 225 (1972)
- 2 J. D. O'Shea and R. E. Phillips
Biol. Reprod. 10, 370 (1974)
- 3 J. D. O'Shea
J. Anat. 106, 196 (1970)
- 4 J. D. O'Shea
Anat. Rec. 167, 127 (1970)
- 5 J. D. O'Shea
J. Reprod. Fertil. 24, 283 (1971)
- 6 L. Osvaldo-Decima
J. Ultrastruc. Res. 30, 218 (1970)
- 7 H. W. Burden
Amer. J. Anat. 133, 125 (1972)
- 8 H. Okamura, P. Virutamasen, K.M. Wright and E. E. Wallach
Am. J. Obstet. Gynecol. 112, 183, (1972)
- 9 A. Thomson
J. Anat. 54, 1 (1919)
- 10 A. Diaz-Infante, K.M. Wright and E. E. Wallach
Fertil. Steril. 26, 101 (1975)
- 11 H. J. Lipner and B. A. Maxwell
Science 131, 1737 (1960)

- 12 H. O. Schild
J. Physiol. (Lond) 86, 51 P (1936)
- 13 P. Mitznegg, E. Schubert and W. Fuchs
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 287, 321 (1975)
- 14 F. Heim, W. Sprügel and P. Mitznegg
Arzneimittelforschung, in Druck
- 15 A. G. Gilman
Proc. Nat. Acad. Sci. 67, 305 (1970)
- 16 B. L. Brown, J. D. M. Albano, R. P. Ekins, A. M. Sgherzi
Biochem. J. 121, 561 (1971)
- 17 Cyclic GMP RIA Kit: product information, Amersham
The Radiochemical Centre, 27 pp (1976)
- 18 N. Subramanian, W. Schinzel, P. Mitznegg and C.-J. Estler
Agents and Actions, in Druck
- 19 G. Schultz
Hormones and Cell Regulation 2, 107 (1978)
Elsevier Holland Biomedical Press
- 20 M. S. Amer
Gastroenterology 67, 333 (1974)
- 21 G. Schultz, J. G. Hardman, K. Schultz, J. W. Davis
and E. W. Sutherland
Proc. Nat. Acad. Sci. 70, 1721 (1973)
- 22 T. P. Lee, J. F. Kno and P. Greengard
Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 3287 (1972)

Lebenslauf

Geboren: 12. 01. 1954 in Gunzenhausen/Mittelfranken

Eltern: Dipl.-Psych. Siegfried Gotthardt, Verwaltungsdirektor
Hedwig Gotthardt, geb. Buchner

Ehemann: Seit 30. 10. 1978 Dipl.-Psych. Werner Moosbauer

Schulbildung:

Sept. 1960 bis Nov. 1962 Volksschule Gunzenhausen
Nov. 1962 bis Juli 1964 Clausnitzer-Schule, Weiden/Opf.
Sept. 1964 bis Juni 1973 Augustinus-Gymnasium,
Weiden/Opf.
Mai 1973 Abitur

Studium: Das gesamte Studium an der Universität Erlangen-
Nürnberg

WS 1973/74 bis WS 1975/76: Vorklinische Fächer

März 1976 Ärztliche Vorprüfung

SS 1976 bis WS 1979/80: Klinische Fächer

März 1977: 1. Teil der ärztlichen Prüfung

März 1979: 2. Teil der ärztlichen Prüfung

April 1979 bis Februar 1980 Praktisches Jahr

an der Univ.-Frauenklinik Erlangen,

Medizinischen Univ.-Klinik Erlangen und der

Chirurgischen Univ.-Klinik Erlangen

10. April 1980: 3. Teil der ärztlichen Prüfung,
schriftlicher Teil

16. Juni 1980: mündlicher Teil

30. Juni 1980: Erlangung der Approbation als Arzt

Berufliche Tätigkeit:

Seit 1. 7. 1980 chirurg. Assistenzärztin
am Kreiskrankenhaus Gunzenhausen.

